

**SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ETIL ASETAT KULIT AKAR
Melochia umbellata (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* DAN AKTIVITAS
LARVASIDANYA TERHADAP *Aedes aegypti***

Riskal Hermawan^{1*}, Nunuk Hariani Soekamto¹, Firdaus²

Laboratorium Kimia Organik

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Hasanuddin

Jln. Perintis Kemerdekaan Km.10, Makassar 90245

Alamat Korespondensi: riskal.hermawan@gmail.com

ABSTRAK

Penentuan aktivitas Larvasida terhadap Aedes aegypti dari ekstrak kulit akar tumbuhan Melochia umbellata (Houtt.) Stapf Var. degrabrata K dan isolasi metabolit sekundernya telah dilakukan. Ekstraksi dan isolasi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut n-heksan, kloroform, etil asetat, metanol, serta proses fraksinasi menghasilkan satu senyawa. Berdasarkan analisis data spektroskopi UV-Vis dan IR serta uji fitokimia diketahui bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa golongan alkaloid. Hasil uji larvasida pada ekstrak n-heksan, kloroform, etil asetat, metanol dan air pada konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm memiliki nilai LC₅₀ berturut-turut 13705,661 ppm, 179,432 ppm, 79,396 ppm, 30,324 ppm dan 77,0371 ppm. Aktivitas paling tinggi ditunjukkan oleh ekstrak metanol dengan nilai LC₅₀ sebesar 30,324 ppm.

Kata kunci: Larvasida, Aedes aegypti, Melochia umbellata (Houtt.) Stapf Var. degrabrata K, LC₅₀, Alkaloid

ABSTRACT

The determination of Larvacidal activity against Aedes aegypti from Melochia umbellata (Houtt.) Stapf Var. degrabrata K root skin extract and isolation of its secondary metabolites has been done. The extraction and isolation were done by maceration using n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and methanol as solvent and the fractionation process results a compound. Based on UV-Vis and IR spectroscopy analysis data and phytochemistry test known that the compound is an alkaloid. Results of larvasida test in n-hexane, chloroform, ethyl acetate, methanol, and water extract in 10 ppm, 100 ppm, and 1000 ppm had LC₅₀ are 13705,661 ppm, 179,432 ppm, 79,396 ppm, 30,324 ppm and 77,0371 ppm respectively. Methanol extract has the highest activity with LC₅₀ is 30,324 ppm.

Keywords: Larvacidal, Aedes aegypti, Melochia umbellata, (Houtt.) Stapf Var. degrabrata K, LC₅₀, Alkaloid.

PENDAHULUAN

Famili Malvaceae adalah salah satu tumbuhan tingkat tinggi yang tumbuh di hutan tropis Indonesia dan secara etnobotani digunakan sebagai obat

antiinflamasi, hepatitis, kolesterol, kudis dan antitumor. Beberapa spesies dari tumbuhan ini diketahui mengandung banyak senyawa kimia yang terdiri atas

beberapa golongan, antara lain minyak atsiri, fenilpropanoid, flavonoid, alkaloid, saponin, dan antarkuinon (Lalo dan Tayeb, 2003).

Penelitian terhadap beberapa ekstrak tumbuhan famili Malvaceae yang memiliki aktivitas larvasida diantaranya adalah ekstrak metanol dari *Sida acuta* memiliki aktivitas larvasida terhadap larva *Culex. Quinquefasciatus*, *Aedes. Aegypti*, *Anopheles stephensi*. dengan nilai LC₅₀ berturut-turut 47,91, 42,08, 38,64 mg/L. (Govindarajan, 2010). Ekstrak n-heksana dari *Abutilon indicum* untuk konsentrasi 1000 ppm memiliki aktivitas larvasida terhadap larva *Ae. Aegypti* dengan nilai LC₅₀ sebesar 261,31 mg/L (Arivoli dan Tennyson, 2011).

Spesies lain dari famili Malvaceae adalah paliasa. Ada dua spesies tumbuhan paliasa yaitu *Kleinhovia hospita* L. dan *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf. *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf terdiri atas dua varietas yaitu *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* K. dan *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *visenia*. *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* K. memiliki kandungan senyawa bioaktif yang lebih toksik bila dibandingkan dengan jenis paliasa lainnya. Hal ini terbukti dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Lalo dan Tayeb (2003) di mana ekstrak metanol dari kayu batang dan kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* K. memperlihatkan aktivitas yang paling tinggi terhadap larva udang *Artemia salina* dengan nilai LC₅₀ secara berturut-turut 1,80, dan 30,27 ppm. Hal ini didukung dengan aktivitas dari kulit akar *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* K terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan nilai LC₅₀ sebesar 66,22 ppm (Erwin, 2009)

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* K. memiliki aktivitas yang cukup baik, diantaranya 9,10-epoksi melochinon (3) dari ekstrak kloroform kayu

akar *M. umbellata* sangat aktif terhadap sel kanker leukemia P-388 dengan IC₅₀ = 0,83 µg/mL. Senyawa Waltherione C (4) yang bersifat toksik terhadap *Artemia salina* dengan nilai LC₅₀ sebesar 0,29 µg/mL dan sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388 dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,26 mg/mL (Erwin, *et al*, 2014). Senyawa turunan steroid telah diisolasi dari kayu akar *Melochia umbellata* yaitu stigmasterol (5,22-stigmastadien-3 -ol) (14) dari fraksi n-heksan aktif terhadap jamur *Aspergillus niger* dengan dengan zona penghambatan sebesar 13,03 mm pada konsentrasi 50 mg/mL (Ridhay, *et al.*, 2012), sedangkan ekstrak metanol kulit akar *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* bersifat toksik terhadap *Artemia salina* dengan nilai LC₅₀ sebesar 66,22 ppm. Penelitian tentang kandungan senyawa metabolit sekunder dari kulit akar *M. umbellata* belum tuntas. Hal ini menjadi tantangan sekaligus peluang bagi peneliti.

Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa spesies *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K memiliki aktivitas yang tinggi, sehingga diharapkan jaringan kulit akar dari *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K yang memiliki aktivitas yang tinggi terhadap *Artemia salina* dapat menunjukkan aktivitas larvasida yang baik. Penelitian mengenai khasiat kulit akar *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *degrabrata* K sebagai larvasida belum pernah dilakukan, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas larvasida dari ekstrak kulit akar tumbuhan *M. umbellata* terhadap larva *Aedes aegypti*).

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, gunting, destilator, rotari evaporator, corong, corong pisah, corong *Buchner*, timbangan digital, perangkat destilasi

Vigreux, kromatografi kolom vakum (KKV), kromatografi kolom gravitasi (KKG), mikropipet, penyaring kristal, wadah penetasan, alat KLT (chambers, pipa kapiler, pensil, *cutter*, dan mistar), dan lampu UV. Sementara untuk analisis spektrometri digunakan spektrometri IR dengan varian FTIR 8501 Shimadzu dan spektrometri UV-VIS 200D⁺. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar dan serbuk kulit akar tumbuhan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K., metanol teknis, *n*-heksan teknis, kloroform p.a, etil asetat teknis, aseton teknis, plat KLT, silika gel 60 (Merk, no. katalog 7733), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7734), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7730), larutan serum sulfat $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 2% dalam H_2SO_4 2 N, kertas saring, kertas whatmann 42, dimetilsulfoksida (DMSO), telur udang *Artemia salina* Leach, larva nyamuk *Aedes aegypti*, akuabides dan akuades.

Metode

Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Sebagai tahap awal sampel Kulit akar tumbuhan *M. umbellata* diperoleh dari daerah daerah Antang, Makassar, Sulawesi Selatan. Spesimen tumbuhan diidentifikasi oleh Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI Bogor

Isolasi

Sebanyak 1,9 kg serbuk kering kulit akar *M. umbellata* dimaserasi dengan *n*-heksana selama 1 x 24 jam sebanyak beberapa kali. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana pekat. Selanjutnya dimaserasi dengan kloroform, etil asetat, dan metanol. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kloroform pekat, ekstrak etil asetat pekat dan ekstrak metanol pekat. Ekstrak yang berpotensi sebagai agen antimalaria selanjutnya difraksinasi melalui KKV, KKT, dan KKG menggunakan eluen yang sesuai berdasarkan analisis dengan KLT

dan setiap hasil fraksinasi dimonitor kembali melalui analisis dengan KLT

Uji Fitokimia

Pada ekstrak *n*-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol kulit akar tumbuhan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K. dilakukan uji fitokimia yaitu uji flavonoid, alkaloid, fenolik, steroid/terpenoid, dan saponin untuk mengetahui golongan-golongan senyawa apa saja yang terdapat pada masing-masing ekstrak tersebut.

Identifikasi

Isolat tunggal yang diperoleh diuji kemurniannya melalui analisis KLT dengan menggunakan tiga macam sistem eluen dan pengukuran titik leleh. Penentuan golongan isolat tunggal dilakukan melalui uji golongan. Elusidasi struktur isolat melalui analisis data spektroskopi IR.

Uji Aktivitas Larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

Uji aktivitas larvasida menggunakan metode Atta, *et al* (2001) terhadap larva *Aedes aegypti*. Sebanyak 20 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dan Instar IV dipindahkan dari wadah penampung ke dalam wadah yang berisi ekstrak (sesuai konsentrasi), dan kontrol. Dihitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam. Perhitungan waktu dimulai setelah memasukkan larva ke dalam gelas piala. Kemudian dihitung persen mortalitas dan nilai LC_{50} dihitung menggunakan analisis probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Hasil maserasi diperoleh ekstrak *n*-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol dengan berat 4,3 g, 7,2 g, 5,87 g dan 11,24 g secara berturut-turut. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia terhadap ekstrak-

ekstrak tersebut dan memberikan hasil seperti yang terlihat pada Tabel 2.

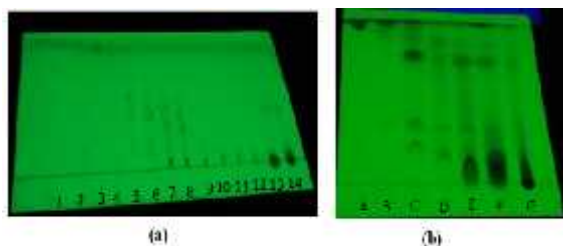
Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak Kulit akar tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf. var *degrabrata* K.

Ekstrak	Steroid/terpen	Fenolik	Flavonoid	Alkaloid	Saponin
n-heksan	++	-	-	-	-
Kloroform	+	++	-	-	-
Etil asetat	+	-	-	-	-
Metanol	-	-	+	+	+

Berdasarkan Tabel 2, senyawa steroid/terpen terdapat pada ekstrak n-heksan, kloroform, dan etil asetat. Golongan senyawa tersebut dominan terdapat pada ekstrak n-heksan. Golongan senyawa fenolik dominan terdapat pada ekstrak kloroform.

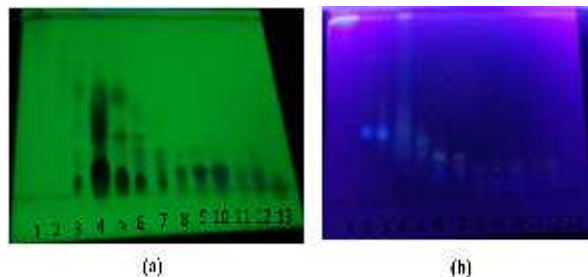
Isolasi

Ekstrak etil asetat sebanyak 4,7541 g difraksinasi melalui kromatografi kolom vakum dengan urutan kepolaran yang meningkat, yaitu n-heksan, n-heksan : etil asetat, etil asetat, aseton dan metanol. Proses fraksinasi diawali dengan pencarian eluen yang memperlihatkan noda dengan nilai R_f 0,3 pada kromatogram melalui analisis KLT menggunakan campuran eluen n-heksan : etil asetat (7:3). Pada tahap ini diperoleh 34 fraksi dan fraksi-fraksi yang memiliki nilai R_f yang sama digabung sehingga diperoleh 8 fraksi utama (Gambar 9).



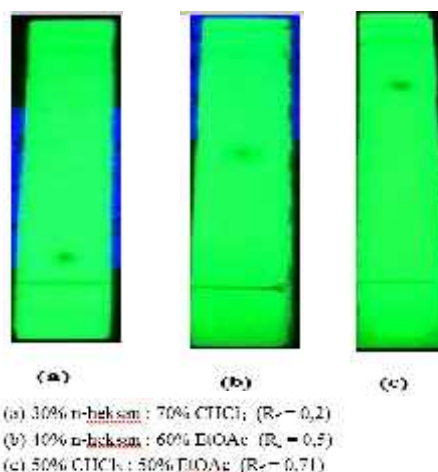
Gambar 9: Kromatogram ekstrak etil asetat, (a) Hasil fraksinasi KKV, (b) fraksi gabungan

Fraksi F. *Crude crystal* fraksi F berwarna kuning dengan berat 102,45 mg difraksinasi dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG) dengan eluen n-heksana : etil asetat (7:3). Hasil fraksinasi diperoleh 13 fraksi



Gambar 10: Kromatogram hasil analisis fraksi F_1 - F_{13} , (a) *UV Short*, (b) *UV Long*

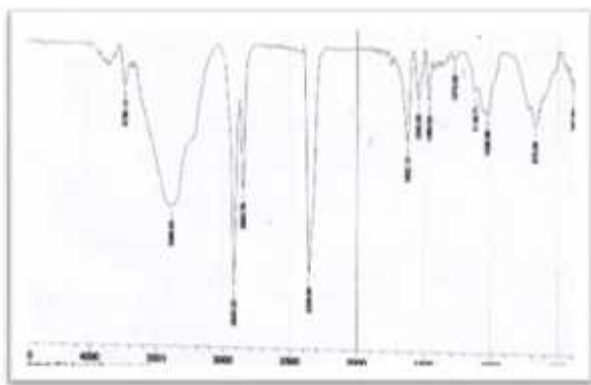
Noda-noda yang teramati berpondar dibawah *UV short wave* dan *UV long wave*. Pada fraksi F_6 terbentuk kristal berbentuk serbuk yang kemudian disaring dan ditimbang. Diperoleh Kristal dengan berat 2 mg. Kristalisasi dan rekristalisasi kristal tersebut dengan menggunakan system dua pelarut yaitu, n-heksan dan etil asetat menghasilkan kristal berwarna putih yang kemudian diuji kemurnian melalui analisis KLT menggunakan tiga sistem eluen (Gambar 11).



Gambar 11: kromatogram hasil analisis KLT fraksi F₆

Noda tunggal pada 3 kromatogram tersebut mengindikasikan bahwa fraksi F₆ merupakan isolat murni yang selanjutnya dinyatakan sebagai senyawa isolat. Senyawa isolat seberat 2 mg memiliki titik leleh sebesar 136-138 °C.

Analisis Data Spektroskopi Senyawa X



Data spektroskopi IR senyawa isolat memperlihatkan adanya gugus NH pada daerah 3348,72 cm⁻¹, gugus CN pada daerah 2356,94 cm⁻¹, gugus Olefin pada daerah 1622,13 cm⁻¹, gugus CH₂ pada daerah 1460,11, gugus CH alifatik pada daerah 2920,20; 2850,79 cm⁻¹.

Berdasarkan Uji fitokimia dan analisis data spektroskopi FTIR, senyawa isolat merupakan golongan senyawa Alkaloid jenis protoalkaloid. Protoalkaloid merupakan alkaloid sederhana dimana nitrogen dan asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklik (non heterosiklik).

Uji Aktivitas Larvasida

Pengujian aktivitas Larvasida pada masing-masing ekstrak kulit akar tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf. var. *degrabrata* K. dilakukan untuk menentukan pengaruh ekstrak *n*-heksan, kloroform, etil asetat, metanol, dan ekstrak air terhadap larva nyamuk *Aedes Aegypti*. Hasil uji Larvasida dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13: Diagram persen mortalitas ekstrak kulit akar *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. Var *degrabrata* terhadap *Aedes aegypti*

Berdasarkan Gambar 13, ekstrak metanol memiliki persen kematian Larva *Aedes aegypti* paling tinggi sebesar 98,33% pada konsentrasi 1000 ppm. Ekstrak *n*-heksan memiliki persen kematian larva *Aedes Aegypti* paling rendah pada konsentrasi 1000 ppm.

Tabel 2: Nilai Toksisitas (LC₅₀) Ekstrak Kulit akar *M. umbellata* (Houtt). Stapf var. *degrabrata* terhadap *Aedes aegpti*

Ekstrak	Nilai toksisitas (LC ₅₀) (µg/mL)
n-heksan	13705,661
Kloroform	179,432
Etil asetat	79,396
Metanol	30,324
Air	77,037

Pengujian ekstrak *n*-heksan, kloroform, etil asetat, metanol, dan ekstrak air kulit akar tumbuhan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* dilakukan untuk membuktikan efek farmakologi tumbuhan tersebut sebagai obat yang dapat mengobati penyakit yang disebabkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*.

Perhitungan jumlah larva yang mati untuk spesies *Aedes aegypti* dilakukan 24 jam setelah perlakuan. Pada Tabel 3 menunjukkan persentase kematian paling tinggi ditunjukkan untuk masing-masing ekstrak sebesar 23,33 %, 86,66 %, 93,33%,

dan 98,33% pada konsentrasi 1000 ppm. Namun, Ekstrak n-heksan menunjukkan tidak membunuh larva hewan uji hingga 50%. Berdasarkan hal tersebut, aktivitas paling tinggi diperlihatkan oleh ekstrak metanol dengan nilai LC_{50} sebesar 30,3249 ppm, Kemudian ekstrak air, etil asetat, kloroform, dan n-heksan berturut-turut 77,0371, 79,3962, 179,432, 13705,661 ppm. Ekstrak kloroform, etil asetat, metanol, dan air aktif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai $LC_{50} < 500$ ppm. Sedangkan ekstrak n-heksana tidak efektif dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai $LC_{50} > 500$ ppm.

Peningkatan konsentrasi ekstrak kulit akar tumbuhan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* K juga diikuti dengan kenaikan jumlah mortalitas larva *Aedes aegypti*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* K yang terdapat di dalam media, maka semakin banyak pula jumlah kematian larva. Hal ini disebabkan oleh kondisi media dengan kandungan senyawa toksik mampu masuk ke dalam tubuh larva dengan cara mendegradasi membrane sel dan merusak sel. Zat tersebut kemudian mengganggu sistem saraf larva dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase. Asetilkolin yang dibentuk oleh sistem saraf pusat berfungsi untuk menghantarkan impuls dari sel saraf ke sel otot. Setelah impuls dihantarkan, prosesnya dihentikan oleh enzim asetilkolinesterase yang memecah asetilkolin menjadi asetil ko A dan kolin. Adanya senyawa alkaloid akan menghambat bekerjanya enzim ini sehingga terjadi penumpukan asetilkolin yang akan menyebabkan terjadinya kekacauan pada sistem penghantaran impuls ke otot yang dapat berakibat otot kejang, terjadi kelumpuhan (*paralysis*) dan berakhir kematian (Hadi *et al.*, 2009).

KESIMPULAN

Senyawa golongan alkaloid telah berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat kulit akar tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf. var *degrabrata* K

Ekstrak kloroform, etil asetat, dan ekstrak metanol memiliki aktivitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} berturut-turut 13705,661, 179,432, 79,396, dan 30,324 ppm. Sedangkan ekstrak n-heksana tidak aktif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arivoli, S., dan Tennyson, S., 2011, Larvicidal and adult emergence inhibition activity of *Abutilon indicum* (Linn.) (Malvaceae) leaf extracts against vector mosquitoes (Diptera: *Culicidae*), *Journal of biopesticides*, **4**(1):27-35
- Dewoto H.R., 2007, *Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Fitofarmaka*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Erwin, 2009, *Penentuan Struktur Molekul Isolat Kayu Batang Melochia Umbellate (Houtt.) Stapf var. Degrabrata K (Paliasa) dan Uji Sel Murin Leukimia P-388*, Disertasi tidak diterbitkan, Program Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Erwin, Alfian, N., Soekamto, N.H., Altena, I., V., Syah, Y., M., 2014, Waltherione C and cleomiscosin from *Melochia umbellata* var. *Degrabrata* K. (Malvaceae), *Biosynthetic and Chemotaxonomic Significance*, **55**, 358-361.
- Hadi UK, Agustina E, Sigit SH. 2009. Sebaran jentik *Aedes aegypti* (Diptera: *Culicidae*) di desa Cikarawang Bogor. Di dalam:

- Prosiding Seminar Nasional Hari Nyamuk 2009). 154-159. Bogor: APNI.
- Hartatik, S. 2011. *Efek ekstrak air daun buah maksar (Brucea javanica (L) Merr.) terhadap daya tetas telur, perkembangan, dan mortalitas larva Aedes aegypti L.* Yogyakarta : UGM.
- Herlina, 1993, *Pengaruh Infus Daun Kayu Paliasa (Kleinhovia hospita Linn) terhadap Transport Aktif Glukosa pada Usus Halus Marmut*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi, FMIPA UNHAS, Makassar.
- Sutarjadi, 1992, *Tumbuhan Indonesia Sebagai Sumber Obat, Kosmetika dan Jamu*, Prosiding Seminar dan Loka karya Nasional Etnobotani, Fakultas Farmasi
- Lalo dan Tayeb, 2003, Efek ekstrak methanol paliasa jenis *Kleinhovia hospita*, *Melochia umbellata* var. *degrabrata* dan *Melochia umbellata* var. *visenia* terhadap fungsi hati mencit yang diinduksi dengan karbon tetraklorida, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **8**(2), 25-32
- Ridhay, A., Noor, A., Soekamto, N. H., Harlim, T., 2012, A Stigmasterol Glycoside from the Root Wood of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf Var. *Degrabrata* K., *Indonesian Journal of Chemistry*, **12**(1), 100-103.
- Satria, W., dan Prasetyowati H., 2012, Daya Larvasida Ekstrak Biji Srikaya (*Annova squamosa*) dengan rentang waktu penyimpanan yang berbedanterhadap larva *Culex quinquefasciatus*, **4**(1).
- Tarumingkeng, R., 1992, *Insektisida : Sifat, mekanisme kerja dan dampak penggunaannya*, Ukrida press, Jakarta.
- Windadri, F.L., Rahayu, M., Uji, T., dan Rustiami, H., 2006, *Biodiversitas*, **7**(4), 333-339.